

# НА ПУТИ К ТРАНСЛЯЦИОННОЙ МЕДИЦИНЕ: ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОФИЗИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ ДЛЯ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ РЕАБИЛИТАЦИОННОЙ ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИИ В ДЕТСКОЙ УРОЛОГИИ

*И. А. Македонский<sup>1,5</sup>, А. В. Коченов<sup>2,3</sup>, Е. П. Поддубная<sup>1,2</sup>, В.А. Моренец<sup>1</sup>,  
И.Б. Кулагина<sup>2,3</sup>, Т.С. Новородовская<sup>4</sup>, О.И. Македонская<sup>5</sup>, С.М. Корогод<sup>3</sup>*

<sup>1</sup> КУ «Днепропетровский специализированный клинический медицинский центр  
матери и ребенка им. Проф. М.Ф. Руднева» ДОС

<sup>2</sup> ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины»

<sup>3</sup> Днепропетровское отделение Международного центра  
молекулярной физиологии НАН Украины

<sup>4</sup> Национальная металлургическая академия Украины

<sup>5</sup> Днепропетровский национальный университет им. О. Гончара

**Введение.** Трансляционная медицина (обозначаемая также термином «трансляционная наука») — это новое направление в области биомедицинских исследований и здравоохранения, нацеленное на улучшение индивидуального и общественного здоровья путем передачи, «трансляции» результатов фундаментальных научных исследований в практику здравоохранения. Такая трансляция научных знаний подразумевает их воплощение в новых методах и инструментах диагностики, лекарствах, медицинских процедурах, в политике и образовании в области здравоохранения [1]. Это быстро развивающееся направление биомедицинских исследований призвано ускорить открытие и разработку новых инструментов и методов диагностики и лечения, используя мультидисциплинарный, междисциплинарный, высоко кооперационный подход под девизом «от лабораторной установки — к постели больного» (англ. bench-to-bedside). В области здравоохранения трансляционная медицина фокусируется на обеспечении того, чтобы научно обоснованные стратегии лечения и профилактики действительно использовались обществом [2]. В развитых странах созданы специализированные центры трансляционной медицины (более 60 только в США), университетские кафедры, выделяется масштабное правительственное и межгосударственное финансирование трансляционных исследований. В 2008–2009 гг. начато издание специализированных научных журналов Clinical and Translational Science, American Journal of Translational Research, Science Translational Medicine, которые по данным на 2014 г. имели импакт-факторы 1.43, 3.402 и 15.843, соответственно. Учреждены международные и нацио-

нальные профессиональные общества, в частности Европейское общество трансляционной медицины, издающее с 2015 года журнал New Horizons in Translational Medicine.

С 2011 г. нами предпринимаются первые шаги в этом новом направлении, развернуты совместные работы Днепропетровского отделения Международного центра молекулярной физиологии Национальной академии наук Украины и Днепропетровского специализированного клинического медицинского центра матери и ребенка им. Проф. М. Ф. Руднева, в которых с 2014 г. участвует также кафедра медицинской биофизики и информатики Днепропетровской медицинской академии МЗ Украины. В 2014–2015 гг. опубликованы первые результаты этих работ [3, 4, 5, 6].

**Цель исследования:** краткий обзор выполненных работ и очерчивание ближайших перспектив их продолжения по компьютерному моделированию биофизических и биохимических процессов, протекающих в гладкомышечных клетках (ГМК) детрузора мочевого пузыря (ДМП) в условиях прямой электрической стимуляции или парасимпатических нейромедиаторных воздействий на мембранные рецепторы ацетилхолина и АТФ. При этом особое внимание было уделено процессам, развивающимся в ответ на стимуляцию, согласно тем же протоколам, которые применяются при медицинской реабилитации.

**Материалы и методы исследования.** Исследования проведены на разработанной с использованием формализма Ходжкина–Хаксли компьютерной модели гладкомышечной клетки (ГМК) детрузора мочевого пузыря, включавшей в себя присущие биологическим клеткам-про-

тотипам основные типы ионных каналов, в частности каналов кальцийзависимого хлорного тока, ионных насосов и механизмов регуляции внутриклеточного кальция [3, 4]. Модель включала в себя также биофизические механизмы парасимпатической иннервации ГМК, а именно активацию холинергических метаболитных рецепторов (М2/М3 типа) и пуринергических ионотропных рецепторов (типа Р2Х).

**Результаты и их обсуждение.** В процессе диагностики, лечения и реабилитации детей с такими врожденными пороками, как комплекс экстрофия мочевого пузыря — тотальная эпизадия, аноректальные пороки и аномалии развития тазового дна, были получены данные, указывающие на то, что в детрузоре новорожденных с названными пороками мускариновые рецепторы М2- и М3-типов по сравнению с нормой малочисленны (с преобладанием типа М2) или отсутствуют [7, 8]. При условии сохранения парасимпатической иннервации тазовых органов после хирургического вмешательства [9] становилась возможной медицинская реабилитация с использованием электростимуляции мышц тазового дна и ЭМГ-контроля [10]. Высокий процент успешности такого реабилитационного подхода поставил на повестку дня вопросы совершенствования протоколов реабилитации, в частности физиологического и биофизического обоснования выбора мишеней и параметров электростимуляции, направленной на компенсацию дефицита парасимпатической иннервации мышц мочевого пузыря, на предотвращение дегенеративных изменений. Существенным мотивом было также то, что информация о характеристиках биофизических и физиологических процессов в соответствующих клетках-мишенях весьма ограничена из-за существенных методических (а в случае клинической практики также и этических) ограничений экспериментальных исследований.

На компьютерной модели исследованы биофизические механизмы генерации потенциалов действия (ПД) и необходимых для инициации сокращения кальциевых транзиевтов в ответ на парасимпатическую активацию метаболитных М2/М3-холинорецепторов и коактивацию ионотропных Р2Х-пуринерецепторов. Модельная ГМК отвечала на толчок деполяризующего тока генерацией ПД, подобного реальным ПД, и преходящим увеличением внутриклеточной концентрации кальция. Генерацию таких же ПД вызывало преходящее увеличение проводимости каналов кальцийзависимого хлорного тока, сопровождаемое увеличением проводимости пуринергических каналов неспецифического тока,

которые связаны с Р2Х-рецепторами (соотношение проводимостей 95 к 5%, как у прототипа). Было установлено, что для генерации ПД существенными были временные соотношения процессов нарастания указанных проводимостей, имитирующих конечный эффект активации М2/М3- и Р2Х-рецепторов.

Вышеописанная модель как достаточно адекватно отображающая реакции клеток на одиночные стимулы в последующих была использована для исследования электрических и концентрационных процессов в ГМК ДМП при стимуляции сериями импульсов, организованных в пачки или конверты согласно типовым протоколам реабилитационной электростимуляции [10]. Исследованы сопряженные изменения мембранного потенциала, парциальных трансмембранных токов и внутриклеточной концентрации кальция  $[Ca^{2+}]_i$ , вызванные в модельной ГМК либо прямым действием тока стимулятора на клеточную мембрану [5, 6], либо действием на мембранные мускариновые и пуриновые рецепторы медиаторов, выделяемых окончаниями возбужденных стимулами парасимпатических нервов [5]. Прямая электростимуляция клеток как пачками, так и конвертами одинаковых импульсов со временем приводила к установлению одинаковых вынужденных электрических и концентрационных колебаний с параметрами, зависящими от межстимульных интервалов (МСИ) [6]. Такие колебания, вызванные стимуляцией с типичными для реабилитационных протоколов МСИ 5 и 50 мс, сопоставимыми с интервалами абсолютной и относительной рефрактерности модельной ГМК [5], существенно отличались характером регенеративных ответов, размахом и средним уровнем деполяризации мембранного потенциала и  $[Ca^{2+}]_i$ , более высокими при высокочастотной стимуляции. Примечательно, что в случае коротких МСИ  $[Ca^{2+}]_i$  не успевая возвращаться к базальному уровню, колебалась в диапазоне значений, которые в других возбудимых клетках считаются выше физиологической нормы. Эти данные подчеркнули необходимость выяснения кинетических характеристик поступления и экстрезии  $Ca^{2+}$  в ГМК ДМП, необходимых для биофизически обоснованного выбора параметров реабилитационной стимуляции, которые предотвращали бы возможные побочные цитотоксические эффекты, связанные с чрезмерно продолжительными высокими уровнями  $[Ca^{2+}]_i$ . Существенным и потому нуждающимся в целенаправленных исследованиях биофизическим параметром ГМК ДМП был также потенциал инверсии ( $E_{Cl}$ )  $Ca^{2+}$ -зависимого хлорного тока, активирующегося, в частности, парасимпатическим действием на М2/М3 рецепторы. Пре-

вышение уровня  $E_{Cl}$  колебаниями мембранного потенциала обуславливало то, что указанный ток периодически изменял свое основное, деполяризующее направление на противоположное, тем самым оказывая разнонаправленное действие на мембрану в разные фазы колебаний.

Полученные результаты составили основу следующего этапа клинических и модельных биофизических исследований. Это клинические исследования, направленные на определение экспрессии ионотропных пуриновых рецепторов в ДМП и других органах малого таза при разных видах урологической и аноректальной патологии новорожденных. Это биофизические исследования, направленные на совершенствование моделей ГМК ДМП, выявление особенностей функционирования ионотропных и метаболитных механизмов в норме и при патологии с учетом новых данных клинических исследований, в частности при реабилитационной стимуляции парасимпатических эфферентов. Наконец, это разработка и исследование новых, близких к прототипам моделей клеток, которые также являются мишенями зондирующей и/или реабилитационной электростимуляции при урологической и аноректальной патологии — ГМК прямой кишки, клеток поперечно-полосатых мышц тазового дна и их иннервации спинальными мотонейронами.

## Список литературы

1. Woolf S. H. *The meaning of translational research and why it matters* // *The Journal of the American Medical Association*. — 2008. — V. 299, N 2. — P. 211–213.
2. Sung N.S., Crowley W.F.Jr., Genel M., Salber P., Sandy L., Sherwood L.M., Johnson S.B., Catanese V., Tilson H., Getz K., Larson E.L., Scheinberg D., Reece E.A., Slavkin H., Dobs A., Grebb J., Martinez R.A., Korn A., Rimoin D. *Central challenges facing the national clinical research enterprise* // *The Journal of the American Medical Association*. — 2003. — V. 289, N 10. — P. 1278–1287.
3. Korogod S.M., Kochenov A.V. *Mathematical Model of the Calcium-Dependent Chloride Current in a Smooth Muscle Cell* // *Neurophysiology*. — 2013. — V. 45, N 5–6. — P. 369–378.
4. Korogod S.M., Kochenov A.V., Makedonsky I.A. *Biophysical Mechanism of Parasympathetic Excitation of Urinary Bladder Smooth Muscle Cells: a Simulation Study* // *Neurophys.* — 2014. — V. 46, N 4. — P. 293–299.
5. Коченов А.В., Поддубная Е.П., Македонский И.А., Корогод С.М. Характеристики возбудимости гладкомышечной клетки детрузора мочевого пузыря как основа выбора параметров реабилитационной электростимуляции: модельное исследование // *Нейрофизиология*. — 2015. — Т. 47, № 2. — P. 114–122.
6. Коченов А.В., Поддубная Е.П., Македонский И.А., Корогод С.М. Биофизические процессы в гладкомышечной клетке детрузора мочевого пузыря при реабилитационной электростимуляции: модельное исследование / *Нейрофизиология*. — 2015. — Т. 47, № 3. — P. 215–224.
7. Makedonsky I.A. *Immunohistochemical investigation of the M2 and M3 muscarinic receptors in patients with bladder exstrophy* // *Eur. Urol.* — 2004. — V. 4, N 2. — P. 182.
8. Македонський І.О. Морфологічні та функціональні властивості сечового міхура у дітей з аноректальними аномаліями // *Хірургія дит. віку*. — 2007. — Т. 4, № 4. — P. 46–52.
9. Македонський І.О. Профілактика ураження органів сечостатевої системи під час хірургічної корекції аноректальних вад у дітей // *Урологія*. — 2011. — Т. 15, № 2(57). — С. 28–31.
10. Македонський І.О., Піддубна О.П. Клінічні можливості систем з біологічним зворотним зв'язком у лікуванні нетримання сечі у дітей з екстрофією сечового міхура // *Мед. перспективи*. — 2011. — Т. 16, № 2. — С. 59–65.

Таким образом, можно говорить о первых результативных шагах на пути становления трансляционных медико-биологических исследований в педиатрии, в частности в детской урологии.

## Выводы

1. Установлено, какие именно параметры биофизических и биохимических клеточных процессов, на которые направлена реабилитационная стимуляция, являются критически важными. Такими критическими, а значит требующими первоочередного установления являются кинетические параметры кальциевой динамики, в частности скорости обмена кальция между цитозолем и депо — саркоплазматическим ретикулумом.

2. Полученные результаты предполагают поиск средств, как фармакологических, так и нефармакологических, для повышения эффективности и минимизации побочных действий реабилитационных процедур.

3. Предложена биофизически обоснованная коррекция протоколов электростимуляции мышц тазового дна путем выбора таких частот следования множественных стимулов, при которых усиливается синергетический (кооперативный) эффект метаболитного холинергического и ионотропного пуринергического компонентов парасимпатических стимулов.

## Реферат

### НА ШЛЯХУ ДО ТРАНСЛЯЦІЙНОЇ МЕДИЦИНИ: ЗАСТОСУВАННЯ БІОФІЗИЧНИХ МОДЕЛЕЙ ДЛЯ УДОСКОНАЛЕННЯ РЕАБІЛІТАЦІЙНОЇ ЕЛЕКТРОСТИМУЛЯЦІЇ В ДИТЯЧІЙ УРОЛОГІЇ

І.О. Македонський, О.В. Коченов,  
О.П. Піддубна, В.О. Моренець,  
І.Б. Кулагіна, Т.С. Новородовська,  
О.І. Македонська, С. М. Корогод

Із використанням формалізму Ходжкіна–Хакслі ми розробили комп'ютерну модель гладкої м'язової клітини (ГМК) детрузора сечового міхура; в модель включені основні види іонних каналів і насосів, а також регуляторні механізми внутрішньоклітинного кальцію, властиві клітини прототипу. Досліджено біофізичні механізми генерації потенціалів дії (ПД), необхідних для ініціації м'язового скорочення та переходу кальцію у відповідь на парасимпатичну активацію метаболічних M2/M3-холінорецепторів і спільної активації P2X-пуринорецепторів. Модельовані ГМК у відповідь на деполяризуючі імпульси струму, що викликали ПД, який за деякими показниками був аналогічний реальним ПД і також супроводжувався тимчасовим збільшенням внутрішньоклітинної концентрації кальцію. Ми показали можливість генерації таких ПД у відповідь на короточасне підвищення провідності каналів кальційзалежного струму хлориду, що супроводжується збільшенням провідності каналів, пов'язаних з P2X-рецепторів (відношення провідності було від 95 до 5% і аналогічно в прототипі). Для генерації ПД, тимчасові відносини процесів зростання у зазначених провідностей, що імітують кінцевий ефект активації M2 / M3 і P2X-рецепторів були значними. Ці дані, отримані на даній моделі, дозволять дослідникам використовувати останній як відповідну відправну точку для розробки більш детальних моделей (зокрема, ті, що представляють каскади метаболічних реакцій, викликані парасимпатично активністю).

**Ключові слова:** гладка м'язова клітина (ГМК), детрузор сечового міхура (ДСМ), метаболічна активація, математична модель.

## Адреса для листування

І.О. Македонський  
E-mail: igor\_makedonsky@yahoo.com

## Summary

### ON A WAY TO TRANSLATIONAL MEDICINE: THE USE OF BIOPHYSICAL MODELS FOR REHABILITATION ELECTRICAL STIMULATION IMPROVEMENT IN PEDIATRIC UROLOGY

I.A. Makedonsky, A.V. Kochenov,  
E.P. Piddubna, V.O. Morenets,  
I.B. Rulagina, T.S. Novorodovska,  
O.I. Makedonska, S.M. Korogod

Using the Hodgkin–Huxley formalism, we developed a computer model of a smooth muscle cell (SMC) of the urinary bladder detrusor; the model included the main types of ion channels and pumps, as well as intracellular calcium regulatory mechanisms inherent in the prototype cell. The biophysical mechanisms of generation of action potentials (APs) necessary for initiation of muscle contraction and those of calcium transients in response to parasympathetic activation of metabotropic M2/M3-cholinergic receptors and co-activation of P2X-purinergic receptors were investigated. The simulated SMC in response to a depolarizing current pulse generated an AP that was, by a number of indices, similar to real APs and was also accompanied by a transient elevation of the intracellular calcium concentration. We demonstrated a possibility of generation of such APs in response to a transient increase in the conductivity of channels of calcium-dependent chloride current accompanied by an increase in the conductivity of channels associated with P2X-receptors (the conductivity ratio was 95 to 5% and similar to that in the prototype). For the AP generation, temporal relations of the processes of increases in the mentioned conductances simulating the final effect of activation of M2/M3- and P2X-receptors were significant. These results obtained on the given model (rather simplified), allow researchers to use the latter as an appropriate starting point for the development of more detailed models (in particular, those representing cascades of metabolic reactions triggered by a parasympathetic action).

**Keywords:** bladder malformations, smooth muscle cell, urinary bladder detrusor, metabotropic activation, mathematical model.